

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 534 911**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/48** (2006.01)

**A61P 27/02** (2006.01)

**A61K 9/00** (2006.01)

**A61K 47/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.08.2010 E 10751599 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.01.2015 EP 2480249**

54 Título: **Uso de plasmina para el tratamiento de fallo de filtración después de trabeculectomía**

30 Prioridad:

**28.08.2009 US 237723 P**  
**28.08.2009 EP 09168912**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**30.04.2015**

73 Titular/es:

**THROMBOGENICS N.V. (100.0%)**  
**Gaston Geenslaan 1**  
**3001 Heverlee , BE**

72 Inventor/es:

**STASSEN, JEAN-MARIE y**  
**STALMANS, INGEBORG**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

Observaciones :

**Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 534 911 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Uso de plasmina para el tratamiento de fallo de filtración después de trabeculectomía

## 5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a la mejora de la cirugía de trabeculectomía. La mejora reside más específicamente en una vida útil prolongada del canal de drenaje esclerocorneal creado mediante cirugía de trabeculectomía. La mejora se obtiene mediante administración posquirúrgica de una plasmina en forma de gotas oculares solamente, mediante inyección en la cámara anterior solamente, o mediante cualquier combinación de estas.

## Antecedentes de la invención

El glaucoma es una enfermedad neurodegenerativa multifactorial y la segunda causa más importante de ceguera irreversible (Quigley, 1996, Br J Ophthalmol 80, 389-393). Esta enfermedad se caracteriza por apoptosis de las células ganglionares de la retina, que da como resultado la pérdida del campo visual. El tratamiento actual de esta enfermedad se dirige hacia la reducción de la presión intraocular (IOP), que es el factor de riesgo principal para el glaucoma (Collaborative Normal-Tension Glaucoma Study Group, 1998, Am J Ophthalmol 126, 487-497).

De todos los tratamientos usados en la actualidad para disminuir la IOP, la cirugía de filtración (trabeculectomía) ha mostrado ser la más eficaz (Burr *et al.*, 2005, Cochrane Database Syst Rev 18(2):CD004399; Hitchings, 1998, Arch Ophthalmol 116, 241-242). Una trabeculectomía crea una fuga "controlada" de fluido (humor acuoso) del ojo, que filtra bajo la conjuntiva. Durante la operación, se retira una parte de la red trabecular en el ángulo de drenaje del ojo, creando una abertura. La abertura se cubre parcialmente con una solapa de tejido de la esclerótica y la conjuntiva. Aparece una pequeña "ampolla" (burbuja) conjuntiva en la unión de la córnea y la esclerótica (limbo) cuando se hace esta válvula producida quirúrgicamente.

Sin embargo, en un 30 % de los casos, el canal construido se cierra debido a la formación de tejido cicatricial excesivo, que da como resultado el fracaso de la cirugía (Addicks *et al.*, 1983, Arch Ophthalmol 101, 795-798). Los 4 procesos importantes que contribuyen a la cicatrización conjuntiva posoperatoria son: formación de coágulos, inflamación, angiogénesis y fibrosis (Lee *et al.*, 1995, J Ocul Pharmacol Ther 11, 227-232; Lama y Fechtner, 2003, Surv Ophthalmol 48, 314-346). De hecho, el aumento de la infiltración conjuntiva de células inflamatorias y fibroblastos de Tenon (Hitchings y Grierson, 1983, Trans Ophthalmol Soc UK 103, 84-88; Skuta y Parrish, 1987, Surv Ophthalmol 32, 149-170), y los mayores niveles de vascularización de ampolla (Jampel *et al.*, 1988, Arch Ophthalmol 106, 89-94) se asocian con el fracaso de la cirugía. Estos procesos están mediados mediante diversas citoquinas (por ejemplo IL-1 e INF- $\alpha$ 2b) y factores de crecimiento (por ejemplo PDGF, FGF, TGF-1 y VEGF (Lama y Fechtner, 2003; Gillies y Su, 1991, Aust NZ J Ophthalmol 19, 299-304)). Los antimetabólicos peroperatorios, tales como mitomicina-C y 5-fluorouracilo pueden mejorar los resultados quirúrgicos (Quigley, 1996; Katz *et al.*, 1995, Ophthalmol 102, 1263-1269). Sin embargo, estos antimetabólicos plantean el riesgo de complicaciones que amenazan la visión tales como debilitamiento escleral e infecciones (Lama y Fechtner, 2003; Hitchings y Grierson, 1983; Skuta y Parrish, 1987; Jampel *et al.*, 1988; Gillies y Su, 1991; Katz *et al.*, 1995; Greenfield *et al.*, 1998, Arch Ophthalmol 116, 443-447). Además, el bloqueo de TGF- $\beta$  parecía prometedor en modelos animales (Cordeiro *et al.*, 2003, Gene Ther 10, 59-71), pero no presentó eficacia en estudios clínicos (CAT-152 0102 Trabeculectomy Study Group, Kwah, Grehn, 2007, Ophthalmol 114, 1822-1830). Se ha informado que el número de intervenciones posteriores a la trabeculectomía expresadas como la incidencia de "manipulaciones de ampolla" posquirúrgicas ha sido tan alto como un 78 % (King *et al.*, 2007, Br J Ophthalmol 91, 873-877). Por lo tanto, aún existe la necesidad de estrategias alternativas para prevenir el fallo de filtración y de ese modo reducir la incidencia de manipulaciones de ampolla.

La microplasmina es una proteína recombinante que disuelve los coágulos sanguíneos mediante su degradación a fibrina. Recientemente, la microplasmina ha mostrado ser eficaz, bien tolerada y segura para uso intraocular en un ensayo clínico en fase II para estudiar su eficacia para inducir desprendimiento vítreo posterior no quirúrgico, PVD (Gandorfer, 2008, Eye 22, 1273-1277; documento de Patente WO 2004/052228) y en la actualidad está en investigación en ensayos clínicos en fase III. Previamente, la plasmina también había sido capaz de inducir PVD (por ejemplo, documento de Patente US 5.304.118). El mecanismo mediante el cual la plasmina o la microplasmina induce el PVD no se comprende completamente en la actualidad. Sin el apoyo de ningún dato experimental, o ningún dato experimental concluyente, los documentos de Patente WO 2009/073457 y WO 2009/067407 proponen la inyección subconjuntival de plasmina para rescatar las ampollas filtrantes y el uso de proteasas activadoras de la metaloproteínasa de matriz para la reducción del IOP, respectivamente.

## 60 Sumario de la invención

La invención se refiere a una plasmina para su uso en el tratamiento de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, o para prevenir, reducir o retardar la aparición de insuficiencia de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo.

Dicha plasmina o dicho medicamento puede estar en una formulación farmacéuticamente aceptable capaz de administrarse a un ojo en forma de gotas oculares tópicas. Alternativamente, dicha plasmina o dicho medicamento puede estar en una formulación farmacéuticamente aceptable capaz de administrarse mediante inyección al interior de la cámara anterior de un ojo.

5 El tratamiento de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, o la prevención, reducción o retardo de la aparición de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo puede resultar de poner en contacto dicho ojo con una cantidad eficaz de gotas oculares tópicas que comprenden dicha plasmina o variante truncada activa de la misma. Alternativamente, puede resultar de la introducción en el interior de la cámara anterior del ojo de una cantidad eficaz de dicha plasmina o variante truncada activa de la misma. En una alternativa adicional, puede resultar de poner en contacto dicho ojo con una cantidad eficaz de gotas oculares tópicas que comprenden dicha plasmina o variante truncada activa de la misma, combinado con la introducción en el interior de la cámara anterior de un ojo de una cantidad eficaz de dicha plasmina o variante truncada activa de la misma.

15 En cualquiera de las anteriores, dicha plasmina puede carecer de uno o más dominios Kringle y/o carecer de partes de uno o más dominios Kringle. Más específicamente, dicha plasmina se puede seleccionar entre el grupo que consiste en midiplasmina, miniplasmina, microplasmina o deltaplasmina.

20 La invención cubre además una plasmina para su uso en el tratamiento de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, o para prevenir, reducir o retardar la aparición de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, en el que dicha plasmina, o dicho medicamento, puede estar en una formulación farmacéuticamente aceptable que comprende además uno o más de un agente para controlar la presión intraocular, un agente antiinflamatorio, un agente antiviral, un agente antibacteriano, un agente antiviral, un agente antiangiogénico, un agente antimitótico, un antihistamínico, un anestésico, un agente para inducir midriasis y un agente para inducir cicloplejía. Alternativamente, cuando dicho agente o agentes adicionales no están incluidos en la formulación farmacéuticamente aceptable, o en el medicamento, dicho ojo puede estar en contacto además con uno o más agentes seleccionados entre un agente para el control de la presión intraocular, un agente antiinflamatorio, un agente antiviral, un agente antibacteriano, un agente antiviral, un agente antiangiogénico, un agente antimitótico, un antihistamínico, un anestésico, un agente para inducir midriasis y un agente para inducir cicloplejía.

30 Leyendas de las figuras

35 La FIGURA 1 muestra la secuencia de aminoácidos con numeración doble de las posiciones de aminoácidos del Glu-plasminógeno humano de tipo silvestre (1 a 791) y el dominio catalítico de la plasmina (1 a 230, secuencia de aminoácidos y numeración en negrita). El microplasminógeno que se usa para demostrar la invención comienza en la posición de aminoácido 543 (numeración relativa al Glu-plasminógeno). Los dominios Kringle (que derivan del número de adhesión de GenBank AAA36451) están rodeados por un rectángulo y sus secuencias de aminoácidos se escribieron alternando letras normales e itálicas. Los aminoácidos de la tríada catalítica están rodeados por un círculo.

40 La FIGURA 2 representa esquemáticamente un ojo después de trabeculectomía. La flecha sombreada con líneas verticales indica el flujo de líquido acuoso desde la cámara anterior del ojo hasta el exterior a través del canal de filtración creado por la trabeculectomía.

45 La FIGURA 3 representa los resultados obtenidos después de trabeculectomía combinada con (i) administración posoperatoria de gotas tópicas que contienen microplasmina (diamantes), (ii) inyección posoperatoria en la cámara anterior de microplasmina (triángulos), o (iii) administración posoperatoria combinada de gotas tópicas que contienen microplasmina e inyección en la cámara anterior de microplasmina (cuadrados).

50 Los datos se normalizan, lo que significa que los valores de fondo obtenidos con el tratamiento de placebo se restan de los valores obtenidos con el tratamiento sin placebo.

#### Descripción detallada de la invención

55 La presente invención se basa en el efecto de la administración de microplasmina en los resultados clínicos de cirugía de trabeculectomía, siendo dicho efecto positivo y dando como resultado la prevención, reducción o retardo de la aparición de fallo de filtración. Como se conoce en la práctica clínica, cada paciente que ha experimentado cirugía de trabeculectomía está en riesgo considerable de desarrollar fallo de filtración.

60 Por lo tanto, la invención se refiere a la plasmina para su uso en el tratamiento de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, o para prevenir, reducir o retardar la aparición de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo.

65 La "plasmina", también conocida como fibrinolisisina o lisofibrina, es una proteasa de tipo serina que resulta de la activación del plasminógeno zimógeno. La activación es el resultado de la escisión proteolítica entre los aminoácidos 561 y 562 (numeración relativa al Glu-plasminógeno). La plasmina porta una cadena pesada que comprende 5

dominios Kringle y una cadena ligera que comprende el dominio catalítico. El plasminógeno se puede enriquecer a partir de plasma sanguíneo, por ejemplo, a través de cromatografía de afinidad de lisina (Deutsch y Mertz, 1970, Science 170, 1095-1096). El truncamiento de la molécula de la plasmina es posible siempre que el dominio catalítico permanezca funcional, y tal truncamiento resulta de ese modo en la formación de una "variante truncada activa" de plasmina. Como tal, se pueden suprimir completa o parcialmente uno o más de los 5 dominios Kringle. Las plasminas truncadas que carecen de uno o más dominios Kringle y/o que carecen de partes de uno o más dominios Kringle están previstas por lo tanto en la presente invención. Algunos ejemplos de variantes truncadas de plasmina incluyen, pero no se limitan a, "midiplasmina", "miniplasmina", "microplasmina", y "delta-plasmina". La midiplasmina carece básicamente de los dominios Kringle 1 a 3 (por ejemplo, Christensen *et al.*, 1995, Biochem J 305, 97-102). La miniplasmina se obtuvo originalmente mediante digestión limitada de plasmina con elastasa y carece básicamente de los dominios Kringle 1 a 4 (por ejemplo, Christensen *et al.*, 1979, Biochim Biophys Acta 567, 472-481; Powell y Castellino, 1980, J Biol Chem 255, 5329). Se ha producido posteriormente miniplasmina de forma recombinante (documento de Patente WO 2002/050290). La microplasmina se obtuvo originalmente mediante incubación de plasmina a pH elevado y carece básicamente de todos los dominios Kringle (por ejemplo, documento de Patente WO 89/01336). Mientras que la microplasmina obtenida a partir de incubación de plasmina a pH elevado contiene los aminoácidos carboxi terminales 30-31 de la cadena pesada, una variante de microplasmina producida de forma recombinante contiene el aminoácido carboxi terminal 19 de la cadena pesada (documento de Patente WO 2002/050290). La delta-plasmina es una versión recombinante de la plasmina en la que el dominio Kringle 1 está unido directamente al dominio catalítico (documento de Patente WO 2005/105990). Las variantes truncadas descritas anteriormente de la plasmina se obtienen mediante activación de "midiplasminógeno", "miniplasminógeno", "microplasminógeno" y "delta-plasminógeno", respectivamente. Para ser activable, un plasminógeno truncado necesita comprender un número mínimo de aminoácidos en el conector entre el dominio Kringle 5 y el dominio catalítico (véase, por ejemplo, Wang *et al.*, 1995, Protein Science 4, 1758-1767). Como alternativa a la plasmina, se puede usar un plasminógeno activable en el contexto de la presente invención (véanse, por ejemplo, los documentos de Patente EP 0480906; US 5.304.383; EP 0631786; US 5.520.912; US 5.597.800; US 5.776.452). "Plasminógeno" se refiere a cualquier forma de plasminógeno, por ejemplo, Glu-plasminógeno o Lys-plasminógeno (comenzando en la Arg de la posición 68 o la Lys de las posiciones 77 o 78). Cuando se usa plasminógeno activable, la activación a plasmina se puede retrasar y producirse después de ponerse en contacto con un órgano, tejido o fluido corporal. En aún otra alternativa, se puede sustituir la plasmina en el contexto de la presente invención por un plasminógeno activable junto con un activador de plasminógeno (tal como un activador de plasminógeno tisular (tPA), uroquinasa, estreptoquinasa o estafiloquinasa; véanse, por ejemplo, los documentos de Patente US 6.733.750; US 6.585.972; US 6.899.877; WO 03/33019). En otra alternativa adicional, se puede usar una mezcla de cualquiera de (i) plasmina, (ii) plasminógeno activable, y (iii) un activador de plasminógeno en el contexto de la presente invención (véase, por ejemplo, el documento de Patente US 2004/0081643). Con el fin de asegurar la estabilidad de la plasmina (o el plasminógeno), se almacenarán generalmente a temperatura reducida (por ejemplo 4 grados Celsius o -20 grados Celsius) en una composición estabilizante tal como de bajo pH (pH 4 o inferior; obtenida, por ejemplo, con ácido 1 mM a 250 mM tal como ácido cítrico; véase, por ejemplo, Castellino y Sodetz, 1976, Methods Enzymol 45, 273-286; documentos de Patente WO 01/36608; WO 01/36609; WO 01/36611) o de alto contenido en glicerol (30-50 % v/v, por ejemplo, Castellino y Sodetz, 1976, Methods Enzymol 45, 273-286), alternativamente en o junto con uno o más estabilizantes adicionales tales como un aminoácido (por ejemplo lisina o un análogo de la misma), un azúcar (por ejemplo, manitol) o cualquier estabilizante conocido en la técnica (por ejemplo, dipéptidos, documento de Patente WO 97/01631). También se incluye en el género "plasmina" cualquier derivado activo de la misma o derivado similar de plasminógeno activable. Tales derivados incluyen, por ejemplo, plasmina o plasminógeno marcados (o variantes truncadas de los mismos) tales como plasmina marcada con Tc<sup>99</sup> (Deacon *et al.*, 1980, Br J Radiol 53, 673-677) o plasmina o plasminógeno pegilados o acilados (o variantes truncadas de los mismos; documentos de Patente EP 9879, WO 93/15189). Dichos derivados incluyen además moléculas de plasmina o plasminógeno híbridas o quiméricas que comprenden, por ejemplo, una plasmina o plasminógeno truncados de acuerdo con la invención condensados, por ejemplo, con una molécula de unión a fibrina (tal como Kringle 2 de tPA, un Kringle de apolipoproteína, el dominio de dedo de tPA o fibronectina y el dominio Fab de un anticuerpo de unión a fibrina).

Existen numerosos ensayos para determinar si una especie de plasmina es proteolíticamente activa o no. Los ensayos fáciles y sencillos se basan en la digestión de un sustrato cromogénico por la plasmina presente en una muestra; los sustratos cromogénicos incluyen S-2403 y S-2251 que liberan p-nitroanilina (pNA) tras la escisión proteolítica. La cantidad de pNA formada se puede medir mediante absorbancia de la luz a 405 nm. Un ensayo alternativo para determinar la actividad de plasmina es un ensayo potenciométrico. Se describen ensayos colorimétricos (que usan un sustrato cromogénico) y potenciométricos, por ejemplo, en Castellino y Sodetz (1976, Methods Enzymol 45, 273-286). Un ensayo alternativo adicional para determinar la actividad de plasmina es un ensayo caseinolítico (por ejemplo, Robbins y Summaria, 1970, Methods Enzymol 19, 184-199; Ruysen y Lauwers, 1978, capítulo IX-Plasmin, en "Pharmaceutical Enzymes", Story-Scientia, Gent, Bélgica, pp. 123-131). Otro ensayo alternativo más para determinar la actividad de plasmina es un ensayo fibrinolítico (por ejemplo, Astrup y Mullertz, 1952, Arch Biochem Biophys 40, 346-351). De hecho, se puede usar cualquier sustrato natural de plasmina marcado adecuadamente por una persona experta en diseñar ensayos de actividad de plasmina.

La "red trabecular (TM)" es una estructura de tipo red en el interior del ojo en la unión iris-esclerótica del ángulo de la cámara anterior. La TM filtra el fluido acuoso y controla su flujo en el canal de Schlemm antes de abandonar la

cámara anterior. Un aumento de resistencia en la TM conduce a una reducción del flujo de salida de fluido acuoso y de ese modo a un aumento de la presión intraocular (IOP).

5 Cuando se deja sin tratar, esta IOP elevada conduce a una lesión glaucomatosa de las fibras del nervio óptico y del nervio de la retina, y conduce a una pérdida de visión. Esta pérdida de visión se puede prevenir o detener mediante la administración de medicación, un "agente para controlar la presión intraocular", que controle la presión intraocular. Tales medicamentos incluyen agentes bloqueantes adrenérgicos (beta bloqueantes o fármacos simpatolíticos tales como betaxolol, carteolol, levobunolol, metipanolol y timolol), agentes estimulantes adrenérgicos (fármacos simpatomiméticos tales como aproclonidina, epinefrina, hidroxianfetamina, fenilefrina, nafazolina y tetrahidrozalina),  
10 inhibidores de la anhidrasa carbónica (tales como acetazolamida sistémica, y brinzolamida y dorzolamida tópicas), mióticos (agentes estimulantes colinérgicos, fármacos parasimpatomiméticos tales como carbachol y pilocarpina), agentes osmóticos (tales como glicerina y manitol), y prostaglandina y análogos de prostaglandina (prostamidas, bimatoprost, isopropil unoprostone, travoprost, latanoprost, prostaglandina natural, prostaglandina F2 $\alpha$ , y agonistas del receptor prostanoide FP). Cuando tales medicamentos no son eficaces (o no lo son más), entonces la cirugía de filtración es un tratamiento viable.

"Trabeculectomía", "cirugía de trabeculectomía" o "cirugía de filtración", se define como un procedimiento quirúrgico en el ojo en el que se retira parte de la red trabecular mediante lo cual se crea un sitio de filtración (un canal de drenaje esclerocorneal) que aumenta el flujo de salida de fluido acuoso del ojo; este tipo de procedimiento de filtración se usa habitualmente en el tratamiento de glaucoma, y más específicamente para reducir la IOP en un ojo sometido a/que padece glaucoma. La Figura 2 es una representación esquemática del resultado de la cirugía de trabeculectomía.

"Fallo de filtración" es una afección que revierte el efecto clínicamente deseado de la cirugía de trabeculectomía, es decir, que revierte la caída deseada en la IOP. El tiempo postoperatorio inicial es crucial en el sentido de que la actividad para curar el ojo es mayor en este período. Este período de alta capacidad de curación del ojo depende de la especie y se extiende de aproximadamente 2 semanas para los conejos hasta 1 a 2 meses en los seres humanos. Tras poner en contacto la plasmína (o por lo tanto cualquier alternativa como se ha descrito anteriormente) con un ojo de acuerdo con la presente invención, disminuye la frecuencia de la aparición de fallo de filtración durante un período de tiempo determinado. La plasmína (o por lo tanto cualquier alternativa como se ha descrito anteriormente) que se usa de acuerdo con la presente invención da como resultado de ese modo la prevención, reducción o retardo de la aparición de fallo de filtración.

La plasmína de la invención, o el medicamento que contiene una o más de la misma, para tratar el fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, o para prevenir, reducir o retardar la aparición de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, puede estar en una formulación farmacéuticamente aceptable capaz de administrarse a un ojo en forma de gotas oculares tópicas. Alternativamente, la plasmína de la invención, o el medicamento que contiene una o más de la misma, está en una formulación farmacéuticamente aceptable capaz de administrarse mediante inyección al interior de la cámara anterior de un ojo. La composición de la formulación de gotas oculares y la formulación para inyección en el interior de la cámara anterior de un ojo pueden ser iguales o diferentes. Para obtener resultados clínicos óptimos, puede ser necesario ajustar las composiciones de las formulaciones para su modo de aplicación y de ese modo pueden ser necesario que sean diferentes.

El tratamiento de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, o la prevención, reducción o retardo de la aparición de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo puede resultar de poner en contacto dicho ojo con una cantidad eficaz de gotas oculares tópicas que comprenden dicha plasmína. En otras palabras, para el tratamiento de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, o para la prevención, reducción o retardo de la aparición de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, la cantidad eficaz de plasmína se puede administrar o se administra en forma de gotas oculares tópicas.

Alternativamente, el tratamiento de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, o la prevención, reducción o retardo de la aparición de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo puede resultar de la introducción en el interior de la cámara anterior de un ojo de una cantidad eficaz de dicha plasmína. En otras palabras, para el tratamiento de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, o para la prevención, reducción o retardo de la aparición de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, la cantidad eficaz de plasmína se puede administrar o se administra mediante introducción o inyección en el interior de la cámara anterior de un ojo.

En una alternativa adicional, el tratamiento de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, o la prevención, reducción o retardo de la aparición de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo puede resultar de poner en contacto dicho ojo con una cantidad eficaz de gotas oculares tópicas que comprenden dicha plasmína, combinado con la introducción en el interior de la cámara anterior de un ojo de una cantidad eficaz de dicha plasmína. La cantidad eficaz de plasmína se puede alcanzar, en este caso, mediante las administraciones combinadas. En otras palabras, para el tratamiento de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, o para la prevención, reducción o retardo de la aparición de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, la cantidad eficaz de plasmína se administra en forma de gotas oculares tópicas

combinadas con la introducción o inyección en el interior de la cámara anterior de un ojo. En lo expuesto anteriormente, la cantidad o concentración de sustancia activa en la formulación de gotas oculares y en la formulación para la inyección intracameral puede ser igual o diferente. Las cantidades o concentraciones de sustancia activa pueden necesitar ajustarse tal como al modo de aplicación o tal como para minimizar que se puedan producir efectos secundarios posteriores cuando se administra, por ejemplo, una alta cantidad o concentración de sustancia activa mediante una cualquiera de las vías de administración. En el último caso, la cantidad eficaz de sustancia activa aún se puede alcanzar por compensación de una baja cantidad o concentración de sustancia activa a través de una vía de administración y mediante una cantidad o concentración mayor de sustancia activa a través de la otra vía de administración.

En una realización de cualquiera de las anteriores, dicha plasmína puede carecer de uno o más dominios Kringle y/o carecer de partes de uno o más dominios Kringle. Más específicamente, dicha plasmína se puede seleccionar entre el grupo que consiste en midiplasmína, miniplasmína, microplasmína o deltaplasmína.

La invención cubre además una plasmína para su uso en el tratamiento de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, o para prevenir, reducir o retardar la aparición de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, que está en una solución farmacéuticamente aceptable que puede comprender además uno o más de un agente para controlar la presión intraocular, un agente antiinflamatorio, un agente antiviral, un agente antibacteriano, un agente antiviral, un agente antiangiogénico, un agente antimitótico, un antihistamínico, un anestésico, un agente para inducir midriasis y un agente para inducir cicloplejía. Alternativamente, cuando dicho agente o agentes adicionales no están incluidos en la solución farmacéuticamente aceptable o medicamento que contiene dicha plasmína, dicho ojo puede estar en contacto además con uno o más agentes seleccionados entre un agente para el control de la presión intraocular, un agente antiinflamatorio, un agente antiviral, un agente antibacteriano, un agente antiviral, un agente antiangiogénico, un agente antimitótico, un antihistamínico, un anestésico, un agente para inducir midriasis y un agente para inducir cicloplejía.

También se prevén los usos en el tratamiento de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, y en particular la prevención, reducción o retardo de la aparición de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo. Estos usos comprenden la etapa de poner en contacto dicho ojo después de cirugía de trabeculectomía con un medicamento que comprende plasmína en el que dicha puesta en contacto da como resultado dicho tratamiento de fallo de filtración, o dicha prevención, reducción o retardo de la aparición de fallo de filtración. Las modalidades de dichos medicamento, plasmína de acuerdo con la invención, y puesta en contacto son como se han descrito anteriormente.

En cualquiera de los usos médicos descritos anteriormente, la plasmína se puede sustituir por plasminógeno, activadores de plasminógeno o cualquier combinación posible (tanto si están en la misma formulación o en forma de soluciones o medicamentos separados) de plasminógeno de plasmína, activadores de plasminógeno, etc. como se han descrito anteriormente en la definición de "plasmína".

"Poner en contacto" significa cualquier modo de administración que da como resultado la interacción entre una composición tal como un medicamento y un objeto (tal como tejido conjuntivo o subconjuntivo) con el que dicha composición está en contacto. La interacción entre la composición y el objeto se puede producir comenzando inmediatamente o casi inmediatamente con la administración de la composición, puede ocurrir durante un periodo prolongado de tiempo (comenzando inmediatamente o casi inmediatamente con la administración de la composición), o se puede retrasar con respecto al tiempo de administración de la composición. Más específicamente, la "puesta en contacto" puede dar como resultado el suministro de una cantidad eficaz del medicamento al objeto.

La expresión "cantidad eficaz" se refiere al régimen de dosificación del medicamento de acuerdo con la invención, en particular de ingrediente activo del medicamento de acuerdo con la invención, es decir, plasmína (o por lo tanto cualquier alternativa como se ha descrito anteriormente). La cantidad eficaz dependerá generalmente de, y necesitará ajuste a, el modo de puesta en contacto o administración. La cantidad eficaz del medicamento, más particularmente su ingrediente activo, es la cantidad requerida para obtener el resultado clínico o el efecto terapéutico o profiláctico deseados sin causar efectos tóxicos considerables o innecesarios. Para obtener o mantener la cantidad eficaz, el medicamento se puede administrar en forma de una dosis individual o en dosis múltiples. La cantidad eficaz puede variar además dependiendo de la gravedad de la afección que necesita tratarse o de la gravedad esperada de la afección que necesita prevenirse o tratarse; esto puede depender del estado general de salud y físico del paciente y habitualmente se requerirá la evaluación del doctor o médico responsable del tratamiento para establecer cuál es la cantidad eficaz. La cantidad eficaz se puede obtener además mediante una combinación de diferentes tipos de puesta en contacto o administración. En el contexto de la presente invención, la cantidad eficaz se puede obtener más particularmente mediante uno o más de administración de gotas oculares tópicas, administración mediante inyección en el interior de la cámara anterior de un ojo o administración mediante inyección subconjuntival. Una dosis habitual de una administración individual del medicamento de la invención puede comprender de 10 µg a 1 mg del compuesto activo (es decir, una plasmína). La administración del medicamento de la invención por medio de inyección se mantiene por lo general al mínimo, es decir, la frecuencia de las inyecciones repetidas se mantiene al mínimo. La administración del medicamento de la invención por medio de

- gotas oculares tópicas se puede realizar con mayor frecuencia, por ejemplo, una vez por hora o, por ejemplo, de 1 a 6 veces al día. Dado que las primeras semanas o meses posteriores a la trabeculectomía (que depende de la especie como se ha descrito anteriormente) son cruciales en el sentido de que la actividad de curación del ojo es la más alta en este período, la duración del tratamiento con un medicamento de acuerdo con la presente invención se debería ajustar a este período. De ese modo, la dosificación y frecuencia de administración iniciales pueden ser relativamente altas y se pueden disminuir gradualmente cuando disminuya el riesgo de aparición de fallo de filtración.
- En general, el medicamento o la composición de la invención que comprende una plasmína (o cualquier derivado de la misma o alternativa a la misma) de acuerdo con la invención puede comprender, dependiendo de su uso final y vía de administración, uno o más ingredientes activos adicionales tales como un agente para controlar la presión intraocular (véase anteriormente), un anticoagulante, un agente trombolítico, un agente antiinflamatorio, un agente antiviral, un agente antibacteriano, un agente antifúngico, un agente antiangiogénico, un agente antimetabólico, un antihistamínico o un anestésico.
- Los "anticoagulantes" incluyen hirudinas, heparinas, cumarinas, heparina de bajo peso molecular, inhibidores de trombina, inhibidores de plaquetas, inhibidores de la agregación plaquetaria, inhibidores de factores de coagulación, anticuerpos antifibrina e inhibidores del factor VIII (tales como los que se describen en los documentos de Patente WO 01/04269 y WO 2005/016455).
- Los "agentes trombolíticos" incluyen uroquinasa, estreptoquinasa, activador de plasminógeno de tipo tisular (tPA), activador de plasminógeno de tipo uroquinasa (uPA) y estafiloquinasa o cualquier variante o derivado de cualquiera de los mismos tal como APSAC (complejo activador de plasminógeno estreptoquinasa anisóilado), alteplasa, reteplasa, tenecteplasa, y scuPA (uPA de cadena sencilla).
- Los "agentes antiinflamatorios" incluyen esteroides (por ejemplo prednisolona, metilprednisolona, cortisona, hidrocortisona, prednisona, triamcinolona, dexametasona) y agentes antiinflamatorios no esteroideos (AINE; por ejemplo acetaminofeno, ibuprofeno, aspirina).
- Los "agentes antivirales" incluyen trifluridina, vidarabina, aciclovir, valaciclovir, famciclovir, y doxuridina.
- Los "agentes antibacterianos" o antibióticos incluyen ampicilina, penicilina, tetraciclina, oxitetraciclina, frameticina, gatifloxacina, gentamicina, tobramicina, bacitracina, neomicina y polimixina.
- Los "agentes antimicóticos/fungistáticos/antifúngicos" incluyen fluconazol, anfotericina, clotrimazol, econazol, itraconazol, miconazol, 5-fluorocitosina, ketoconazol y natamicina.
- Los "agentes antiangiogénicos" incluyen anticuerpos (o fragmentos de los mismos) tales como anticuerpos anti-VEGF (factor de crecimiento vascular endotelial) o anti-PIGF (factor de crecimiento placentario) y agentes tales como Macugen (pegaptanib sódico), triptofanil-tRNA sintetasa (TrpRS), acetato de anecortave, profármaco de combrestatina A4, AdPEDF (adenovector capaz de expresar factor derivado del epitelio pigmentado), trampa de VEGF, inhibidor del receptor 2 de VEGF, inhibidores de VEGF, PIGF o TGF- $\beta$ , Sirolimus (rapamicina) y endostatina.
- Los "agentes antimetabólicos" incluyen mitomicina C y 5-fluorouracilo.
- Los "antihistamínicos" incluyen fumarato de ketotifeno y maleato de feniramina.
- Los "anestésicos" incluyen benzocaína, butambeno, dibucaína, lidocaína, oxibuprocaína, pramoxina, proparacaína, proximetacaína, tetracaína y ametocaína.
- Otros agentes o fármacos adjuntos que se pueden usar junto con la plasmína (o cualquier alternativa a la misma como se ha descrito anteriormente) de acuerdo con la invención incluyen escopoloamina, atropina o tropicamida, para inducir midriasis (dilatación de la pupila) y/o cicloplejía (parálisis del músculo que enfoca el ojo).
- Además de la plasmína (o cualquiera de las alternativas para la misma como se han descrito anteriormente), cada uno de los agentes enumerados anteriormente así como los antihistamínicos y anestésicos se pueden considerar como un "ingrediente activo".
- Una "formulación farmacéuticamente aceptable", en el contexto de la presente invención, es más particularmente una "formulación oftalmológicamente aceptable". En general, una formulación es una composición que comprende un vehículo, diluyente o adyuvante compatible con los uno o más ingredientes activos que se formulan, siendo la formulación en su totalidad compatible con el uso destinado en el tejido u órgano destinado, etc. Se pueden encontrar ejemplos de formulaciones farmacéuticamente aceptables así como métodos para prepararlas, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences (por ejemplo, 20ª edición; Lippincott, Williams y Wilkins, 2000) o en cualquier manual de Farmacopea (por ejemplo, las Farmacopeas internacional, europea o de Estados Unidos).

Las "gotas oculares tópicas" contienen por lo general un ingrediente activo (tal como plasmina o cualquier alternativa a la misma como se ha descrito anteriormente) o una combinación de ingredientes activos en una solución salina y, opcionalmente, uno o más lubricantes.

- 5 Los "lubricantes" incluyen propilenglicerol, glicerina, carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, lecitina de soja, alcohol polivinílico, vaselina blanca, aceite mineral, povidona, carbopol 980, polisorbato 80, dextrano 70.

### Ejemplos

- 10 Los ejemplos que se incluyen en lo sucesivo en el presente documento demuestran la invención.

#### Ejemplo 1. Modelo de ratón para cirugía de filtración en glaucoma

- 15 Se llevó a cabo una cirugía de filtración (trabeculectomía) en conejos hembra de Nueva Zelanda, con una edad de 12 a 14 semanas y un peso de 2 a 3 kg, en ambos ojos de la misma forma que en los ojos humanos, excepto que en los conejos se produce una fibrosis posoperatoria mucho más agresiva, que da como resultado un fallo de filtración después de 10 a 14 días (Miller *et al.*, 1985, Trans Ophthalmol Soc UK 104, 893-897).

- 20 Se incluyó anestesia general con una inyección intramuscular de Ketalar (50 mg/ml) y Rompun (2 %). Antes de la operación, se midió la IOP en ambos ojos usando un tonómetro Tono-Pen<sup>®</sup> (Medtronic Solan) con anestesia tópica (Unicain, 4 mg/ml).

- 25 En resumen, para la trabeculectomía se colocó superiormente una sutura de tracción corneal Vicryl 9/0 y se empujó el ojo hacia abajo. Se elevó la solapa conjuntiva basada en limbo después de lo cual se llevó a cabo una disección despuntada del espacio subconjuntival. Después de formarse una solapa escleral de 5 mm por 5 mm, se retiró una parte de la red trabecular y se llevó a cabo una iridectomía. Las solapas conjuntivales y esclerales se cerraron una sutura de Nailon 10-0. Al final de la operación se formó una ampolla.

- 30 El seguimiento posoperatorio de los conejos tuvo lugar diariamente durante la primera semana y dos veces al día hasta que escarificaron. Se realizó el examen en ambos ojos y todas las medidas se llevaron a cabo con anestesia tópica. Los registros de la IOP se llevaron a cabo usando un tonómetro Tono-Pen<sup>®</sup>. Las características de la ampolla incluyendo el área de la ampolla (ancho y longitud) y la vascularidad conjuntiva se investigaron de acuerdo con el sistema de calificación de ampolla de Moorfields. Durante la primera semana se realizó una evaluación del segmento anterior y de la presencia de coágulos sanguíneos alrededor del canal de filtración mediante examen con una lámpara de hendidura.

- 35

#### Ejemplo 2. Investigación inmunohistoquímica

- 40 En el día 30 después de la cirugía, se sacrificaron los conejos usando una inyección intravenosa letal de Rompun con anestesia general. Se enuclearon ambos ojos, se fijaron durante una noche en PFA al 4 % y se embebieron en parafina. Se (inmuno)tiñeron cortes delgados de 7 µm con CD45 para evaluar la inflamación y con rojo Sirio y Tricromo para evaluar fibrosis.

##### A. Deposición de colágeno

- 45 Las tinciones de rojo Sirio y Tricromo se usaron para demostrar la deposición de colágeno. Después de la tinción de rojo Sirio el colágeno se coloreó de rojo; después de la tinción de Tricromo el colágeno coloreó de azul (azul anilina, 5 minutos), los núcleos de negro (hematoxilina de Weigert, 10 minutos) y el citoplasma de rojo (fucsina escarlata de Biebrich, 2 minutos).

- 50

##### B. Inflamación

- 55 Se llevó a cabo una tinción de CD45 para estudiar las células inflamatorias. Después de una incubación de 20 minutos con metanol y 45 minutos con PIR (1/5; Dakocytomation) las muestras se incubaron durante una noche con anticuerpo de ratón anti conejo CD45 (1/3, 10-50 µg/ml; MCA808; AbDSerotec). El día siguiente, las muestras se incubaron durante 45 minutos con RAM-B (1/300; Dakocytomation). La tinción se finalizó usando un kit de Perkin Elmer (Renaissance TSA<sup>™</sup> Indirect; NEL700). DAB (Fluka) proporciona al tejido un color pardo por adición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. La contratinción se llevó a cabo usando hematoxilina de Harris (Merck).

- 60 Ejemplo 3. Efecto de la microplasma en las ampollas después de trabeculectomía en ojos de conejo

- Grupo 1: cirugía de filtración seguida de inyección en la cámara anterior de microplasma en el día 0: inmediatamente después de la operación de trabeculectomía, 10 conejos recibieron una inyección en la cámara anterior de microplasma (200 µl de una solución de 2,5 mg de microplasma/ml en ácido cítrico 5 mM, 6 mg/ml de manitol, pH 3,1). Se realizó la trabeculectomía en otros diez conejos seguida de inyecciones de control del mismo volumen de NaCl al 0,9 %.

- 65



5 Grupo 2: cirugía de filtración seguida de administración de gotas oculares tópicas que contienen microplasma: inmediatamente después de la operación de trabeculectomía, se administró microplasma en 3 conejos en forma de gotas oculares tópicas (4 mg de microplasma/ml en ácido cítrico 5 mM, 6 mg/ml de manitol, pH 3,1; se administró 1 gota de aproximadamente 50-55 µl 4 veces por día durante un periodo de 14 días). Se realizó la trabeculectomía en otros tres conejos seguida de administración de gotas oculares de control de NaCl al 0,9 %.

10 Grupo 3: cirugía de filtración seguida de inyección en la cámara anterior de microplasma y administración de gotas oculares tópicas que contienen microplasma: inmediatamente después de la operación de trabeculectomía, 5 conejos recibieron una inyección en la cámara anterior de microplasma (como en el Grupo 1) combinada con la administración de gotas oculares tópicas (como en el Grupo 2). Se realizó la trabeculectomía en otros cinco conejos seguida de inyecciones de control como en el Grupo 1 y administración de gotas oculares de control como en el Grupo 2.

15 Grupo 4: similar al Grupo 1 excepto en que se administran 100 µl de microplasma por vía subconjuntival (en lugar de 200 µl en la cámara anterior) en los ojos de 5 conejos. El grupo de control consiste en 5 conejos.

20 Grupo 5: similar al Grupo 4 excepto en que se administran 100 µl de microplasma por vía subconjuntival (administración repetida) 1 semana después de la administración inicial. El grupo de control consiste en 5 conejos.

25 En cualquiera de los experimentos perfilados anteriormente, la solución ácida de microplasma se puede neutralizar alternativamente antes de ponerse en contacto con rojo.

30 Resultados: como se ilustra en la Figura 3 (datos normalizados), la microplasma aumentó considerablemente el área y la supervivencia de la ampolla en el modelo de trabeculectomía de conejo. Todos los tratamientos representados tuvieron un efecto positivo inicial más o menos igual en la supervivencia de la ampolla (diamantes: administración tópica; triángulos: inyección en la cámara anterior; cuadrados: administración tópica e inyección en la cámara anterior combinadas). La inyección en la cámara anterior de microplasma y la administración combinada de gotas oculares e inyección en la cámara anterior tuvieron un efecto positivo en la supervivencia de la ampolla durante un período de tiempo más prolongado. La deposición de colágeno se redujo a niveles basales después de la administración de microplasma en comparación con el control. No se observó ningún cambio significativo en la inflamación en la cámara anterior o en la conjuntiva. Al contrario que las gotas oculares y/o la inyección en la cámara anterior, la inyección subconjuntival de microplasma no dio como resultado un aumento en la supervivencia de la ampolla.

35 Listado de secuencias

<110> ThromboGenics N.V.

40 <120> Mejora de trabeculectomía

<130> TG-038 PCT

45 <150> EP09168912

< 151> 28-08-2009

45 <150> US61/237,723

< 151> 28-08-2009

50 <160> 1

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

55 <211> 791

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 1

ES 2 534 911 T3

Glu Pro Leu Asp Asp Tyr Val Asn Thr Gln Gly Ala Ser Leu Phe Ser  
 1 5 10 15  
 Val Thr Lys Lys Gln Leu Gly Ala Gly Ser Ile Glu Glu Cys Ala Ala  
 20 25 30  
 Lys Cys Glu Glu Asp Glu Glu Phe Thr Cys Arg Ala Phe Gln Tyr His  
 35 40 45  
 Ser Lys Glu Gln Gln Cys Val Ile Met Ala Glu Asn Arg Lys Ser Ser  
 50 55 60  
 Ile Ile Ile Arg Met Arg Asp Val Val Leu Phe Glu Lys Lys Val Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Ser Glu Cys Lys Thr Gly Asn Gly Lys Asn Tyr Arg Gly Thr Met  
 85 90 95  
 Ser Lys Thr Lys Asn Gly Ile Thr Cys Gln Lys Trp Ser Ser Thr Ser  
 100 105 110  
 Pro His Arg Pro Arg Phe Ser Pro Ala Thr His Pro Ser Glu Gly Leu  
 115 120 125  
 Glu Glu Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Asp Pro Gln Gly Pro Trp  
 130 135 140  
 Cys Tyr Thr Thr Asp Pro Glu Lys Arg Tyr Asp Tyr Cys Asp Ile Leu  
 145 150 155 160

ES 2 534 911 T3

Glu Cys Glu Glu Glu Cys Met His Cys Ser Gly Glu Asn Tyr Asp Gly  
 165 170 175

Lys Ile Ser Lys Thr Met Ser Gly Leu Glu Cys Gln Ala Trp Asp Ser  
 180 185 190

Gln Ser Pro His Ala His Gly Tyr Ile Pro Ser Lys Phe Pro Asn Lys  
 195 200 205

Asn Leu Lys Lys Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Arg Glu Leu Arg Pro  
 210 215 220

Trp Cys Phe Thr Thr Asp Pro Asn Lys Arg Trp Glu Leu Cys Asp Ile  
 225 230 235 240

Pro Arg Cys Thr Thr Pro Pro Pro Ser Ser Gly Pro Thr Tyr Gln Cys  
 245 250 255

Leu Lys Gly Thr Gly Glu Asn Tyr Arg Gly Asn Val Ala Val Thr Val  
 260 265 270

Ser Gly His Thr Cys Gln His Trp Ser Ala Gln Thr Pro His Thr His  
 275 280 285

Asn Arg Thr Pro Glu Asn Phe Pro Cys Lys Asn Leu Asp Glu Asn Tyr  
 290 295 300

Cys Arg Asn Pro Asp Gly Lys Arg Ala Pro Trp Cys His Thr Thr Asn  
 305 310 315 320

Ser Gln Val Arg Trp Glu Tyr Cys Lys Ile Pro Ser Cys Asp Ser Ser  
 325 330 335

Pro Val Ser Thr Glu Gln Leu Ala Pro Thr Ala Pro Pro Glu Leu Thr  
 340 345 350

Pro Val Val Gln Asp Cys Tyr His Gly Asp Gly Gln Ser Tyr Arg Gly  
 355 360 365

Thr Ser Ser Thr Thr Thr Thr Gly Lys Lys Cys Gln Ser Trp Ser Ser  
 370 375 380

Met Thr Pro His Arg His Gln Lys Thr Pro Glu Asn Tyr Pro Asn Ala  
 385 390 395 400

Gly Leu Thr Met Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Ala Asp Lys Gly Pro  
 405 410 415

Trp Cys Phe Thr Thr Asp Pro Ser Val Arg Trp Glu Tyr Cys Asn Leu

ES 2 534 911 T3

			420						425							430
Lys	Lys	Cys	Ser	Gly	Thr	Glu	Ala	Ser	Val	Val	Ala	Pro	Pro	Pro	Val	
		435					440					445				
Val	Leu	Leu	Pro	Asp	Val	Glu	Thr	Pro	Ser	Glu	Glu	Asp	Cys	Met	Phe	
	450					455					460					
Gly	Asn	Gly	Lys	Gly	Tyr	Arg	Gly	Lys	Arg	Ala	Thr	Thr	Val	Thr	Gly	
465					470					475					480	
Thr	Pro	Cys	Gln	Asp	Trp	Ala	Ala	Gln	Glu	Pro	His	Arg	His	Ser	Ile	
				485					490					495		
Phe	Thr	Pro	Glu	Thr	Asn	Pro	Arg	Ala	Gly	Leu	Glu	Lys	Asn	Tyr	Cys	
			500					505					510			
Arg	Asn	Pro	Asp	Gly	Asp	Val	Gly	Gly	Pro	Trp	Cys	Tyr	Thr	Thr	Asn	
		515					520					525				
Pro	Arg	Lys	Leu	Tyr	Asp	Tyr	Cys	Asp	Val	Pro	Gln	Cys	Ala	Ala	Pro	
	530					535					540					
Ser	Phe	Asp	Cys	Gly	Lys	Pro	Gln	Val	Glu	Pro	Lys	Lys	Cys	Pro	Gly	
545					550					555					560	
Arg	Val	Val	Gly	Gly	Cys	Val	Ala	His	Pro	His	Ser	Trp	Pro	Trp	Gln	
				565					570					575		
Val	Ser	Leu	Arg	Thr	Arg	Phe	Gly	Met	His	Phe	Cys	Gly	Gly	Thr	Leu	
			580					585					590			
Ile	Ser	Pro	Glu	Trp	Val	Leu	Thr	Ala	Ala	His	Cys	Leu	Glu	Lys	Ser	
		595					600					605				
Pro	Arg	Pro	Ser	Ser	Tyr	Lys	Val	Ile	Leu	Gly	Ala	His	Gln	Glu	Val	
	610					615					620					
Asn	Leu	Glu	Pro	His	Val	Gln	Glu	Ile	Glu	Val	Ser	Arg	Leu	Phe	Leu	
625					630					635					640	
Glu	Pro	Thr	Arg	Lys	Asp	Ile	Ala	Leu	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Pro	Ala	
				645					650					655		
Val	Ile	Thr	Asp	Lys	Val	Ile	Pro	Ala	Cys	Leu	Pro	Ser	Pro	Asn	Tyr	
			660					665					670			
Val	Val	Ala	Asp	Arg	Thr	Glu	Cys	Phe	Ile	Thr	Gly	Trp	Gly	Glu	Thr	
		675					680					685				

ES 2 534 911 T3

Gln Gly Thr Phe Gly Ala Gly Leu Leu Lys Glu Ala Gln Leu Pro Val  
 690 695 700

Ile Glu Asn Lys Val Cys Asn Arg Tyr Glu Phe Leu Asn Gly Arg Val  
 705 710 715 720

Gln Ser Thr Glu Leu Cys Ala Gly His Leu Ala Gly Gly Thr Asp Ser  
 725 730 735

Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Phe Glu Lys Asp Lys  
 740 745 750

Tyr Ile Leu Gln Gly Val Thr Ser Trp Gly Leu Gly Cys Ala Arg Pro  
 755 760 765

Asn Lys Pro Gly Val Tyr Val Arg Val Ser Arg Phe Val Thr Trp Ile  
 770 775 780

Glu Gly Val Met Arg Asn Asn  
 785 790

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Plasmina para su uso en el tratamiento de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, o para la prevención, reducción o retardo de la aparición de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo.
- 10 2. La plasmina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 que está en una formulación farmacéuticamente aceptable capaz de administrarse a un ojo en forma de gotas oculares tópicas.
- 15 3. La plasmina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 que está en una formulación farmacéuticamente aceptable capaz de administrarse mediante inyección en el interior de la cámara anterior de un ojo.
- 20 4. La plasmina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 en el que dicho tratamiento de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, o dicha prevención, reducción o retardo de la aparición de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo resulta de poner en contacto dicho ojo con una cantidad eficaz de gotas oculares tópicas que comprenden dicha plasmina.
- 25 5. La plasmina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 en el que dicho tratamiento de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, o dicha prevención, reducción o retardo de la aparición de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo resulta de la introducción en el interior de la cámara anterior de un ojo de una cantidad eficaz de dicha plasmina.
- 30 6. La plasmina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 en el que dicho tratamiento de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo, o dicha prevención, reducción o retardo de la aparición de fallo de filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo resulta de poner en contacto dicho ojo con una cantidad eficaz de dicha plasmina mediante gotas oculares tópicas que comprenden dicha plasmina, combinado con la introducción en el interior de la cámara anterior de un ojo de dicha plasmina.
- 35 7. La plasmina para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en el que dicha plasmina carece de uno o más dominios Kringle y/o carece de partes de uno o más dominios Kringle.
- 40 8. La plasmina para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 en el que dicha plasmina se selecciona entre el grupo que consiste en midiplasmina, miniplasmina, microplasmina o deltaplasmina.
9. La plasmina para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 que está en una formulación farmacéuticamente aceptable que comprende además uno o más de un agente para controlar la presión intraocular, un agente antiinflamatorio, un agente antiviral, un agente antibacteriano, un agente antiangiogénico, un agente antimitótico, un antihistamínico, un anestésico, un agente para inducir midriasis y un agente para inducir cicloplejía.
10. La plasmina para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 8 en el que dicho ojo se pone en contacto además con uno o más agentes seleccionados entre un agente para controlar la presión intraocular, un agente antiinflamatorio, un agente antiviral, un agente antibacteriano, un agente antiangiogénico, un agente antimitótico, un antihistamínico, un anestésico, un agente para inducir midriasis y un agente para inducir cicloplejía.

1	11	21	31	41	51
EP <del>L</del> DDYVNTQ	GASLFSVTKK	QLGAGSIEEC	AAKCEEDEEF	TCRAFQYHSK	EQOCVIMAEN
61	71	81	91	101	111
RKSSIIIRM <del>R</del>	DVVLFEKKVY	<b>I</b> SECKTGNGK	NYRGTMSKTK	NGITCQKWSS	TSPHRPRFSP
121	131	141	151	161	171
<b>A</b> THPSEGLEE	NYCRNPNDP	QGPWCYTDP	EKRYDYCDIL	ECE <b>E</b> ECMHCS	GENYDGKISK
181	191	201	211	221	231
<b>T</b> MSGLEQAW	DSQSPHAGY	IPSKFPKNL	KKNYCRNPDR	ELRPWCFTTD	PNKRWELCDI
241	251	261	271	281	291
<b>P</b> RO <del>T</del> TPPPSS	GH <b>T</b> YQCLKGT	GENYRGNVAV	TVSGHTCQHW	SAQTPH <del>T</del> NR	TPENFPCKNL
301	311	321	331	341	351
<b>D</b> ENYCRNPDG	KRAPWCHTTN	SQVRWEYCKI	PSCD <b>S</b> SPVST	EQLAPTAPPE	LTPVV <b>Q</b> DCYH
361	371	381	391	401	411
<b>G</b> DGQSYRGTS	STTTTGK <del>K</del> CQ	SWSSMTPHRH	QKTPENYPNA	GLTMNYCRNP	DADKGPWCFT
421	431	441	451	461	471
<b>T</b> DPSVRWEYC	NLKKCS <b>S</b> TEA	SVVAPPPVVL	LPDVETPS <b>E</b> E	DCMFGNGKGY	RGKRATTVTG
481	491	501	511	521	531
<b>T</b> PCQDWAQ <b>E</b>	PHRHSIFTPE	TNPRAGLEKN	YCRNPDGDVG	GPWCYTTPNR	KLYDYCDVPO
541	551	561	571	581	591
		1	9	19	29
					39
<b>C</b> A <b>A</b> PSFDCGK	POVEPKKCPG	RVVGGCVAHP	HSWPWQVSLR	TRFGMHFCGG	TLISPEWVLT
601	611	621	631	641	651
	49	59	69	79	89
					99
<b>A</b> <b>H</b> CLEKSPR	PSSYKVILGA	HQEVNLEPHV	QEIEVSRLFL	EPTR <b>I</b> D <b>I</b> ALL	KLSSPAVITD
661	671	681	691	701	711
	109	119	129	139	149
					159
<b>K</b> VIPACL <b>P</b> SP	NYVVADRTEC	FITGWGETQG	TFGAGLLKEA	QLPVIENKVC	NRYEFLNGRV
721	731	741	751	761	771
	169	179	189	199	209
					219
<b>Q</b> STELCAGHL	AGGTDSCQGD	<b>S</b> GGPLVCFEK	DKYILQGVTS	WGLGCARP <b>N</b> K	PGVYVRVSRF
781	791				
	229				
VTWIEGVMRN	N	(SEC ID N°: 1)			

FIGURA 1

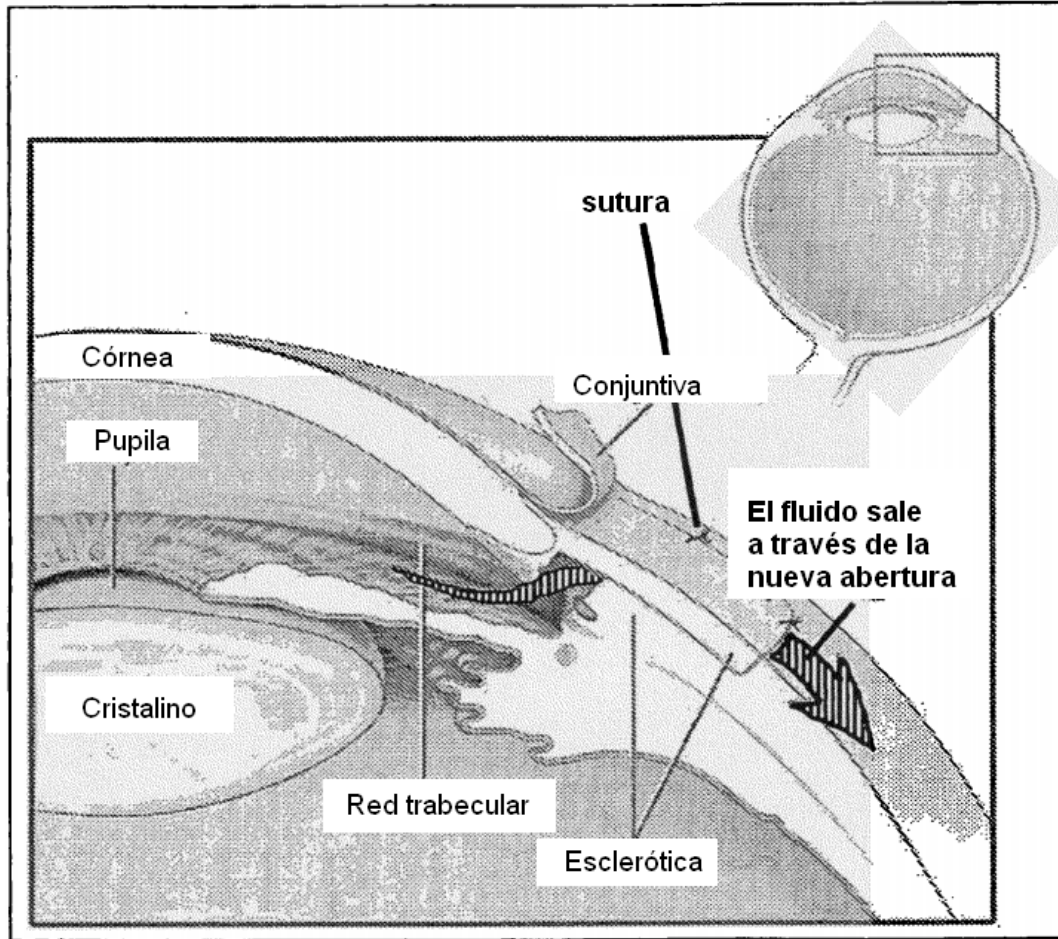


FIGURA 2



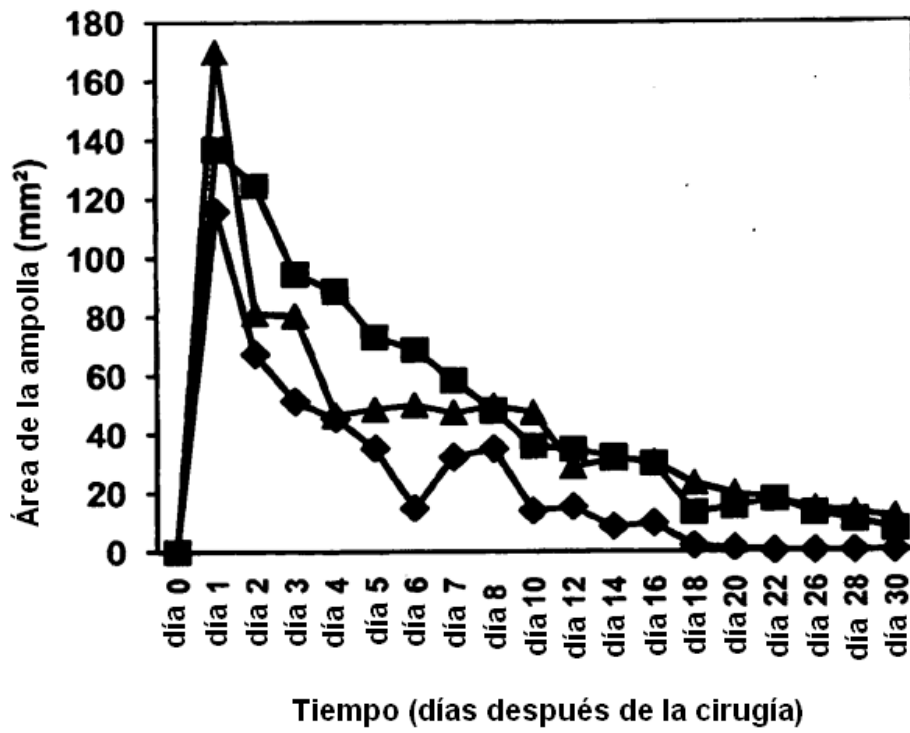


FIGURA 3